

## 主論文の要約

Genetic analysis of the traits related to translocation and biomass production in rice

(イネにおける転流およびバイオマス生産に関する形質の遺伝解析)

**Phung Danh Huan**

大学院生命農学研究科生命技術科学専攻フィールド情報農学研究室

イネ科作物では、出穂後の光合成産物の茎葉部から穂への転流と、その基盤となるバイオマス (biomass、BM) 生産が収量に大きな影響を与える。出穂前に茎葉部に蓄積された光合成産物は、収量の 24-27%を占めるとの報告があり、残りの収量は出穂後の光合成により供給される。しかしながら、この比はイネの品種や栽培環境に大きく影響される。一般的に、インディカ品種は出穂前に蓄積された光合成産物の量に依存する割合がジャポニカ品種よりも大きいとされている。また、乾燥、低温、日照不足、肥料欠乏等の悪環境下では、出穂前の光合成産物の蓄積への依存割合が高くなる。過去の研究においては、茎葉部における光合成産物の蓄積の指標として非構造性炭水化物 (non-structural carbon、NSC) の濃度または総量が用いられてきた。しかしながら、出穂期の NSC 濃度は必ずしも実際に出穂後に穂に転流される茎葉部のバイオマス (shoot weight transfer ratio、SWTR) の割合とは一致しない。本研究では、SWTR を出穂直後から収穫期までに減少する茎葉部重量の割合として定義し、NSC 濃度と合わせて遺伝解析を行った。また、十分な収量を得るためににはそもそも十分な BM が必要である。本研究は、NSC、SWTR および BM に関連する形質の遺伝解析を行い、イネの収量向上のために必要な因子に関して考察を行った。まず、異なる 2 品種のイネを用い、SWTR、NSC、BM、収量等の形質の比較を行った。ジャポニカ品種'T65'は典型的な温帯ジャポニカ品種であり、その比較対象としてインディカ (*aus*) 品種である'DV85'を用いた。また、T65 と DV85 の交雑に由来する組換え自殖系統群 (RILs) においても形質評価を行い、収量に相関が高い形質を同定した。次に、上記 RILs を用いた量的形質遺伝子座 (quantitative trait loci、QTL) 解析により、本研究で調査した形質に関連する染色体領域を探査した。さらに、各 QTL の効果を検出しやすい遺伝解析材料を用い、検出された QTL の効果の確認を試みた。

T65 と DV85 の比較においては、出穂後 5 日 (5 days after heading、5 DAH) から 5 日ごとに植物体のサンプリングを行い、穂重 (panicle weight、PW)、茎葉重 (shoot weight、SW)、NSC 濃度および SPAD メーターによる止め葉の単位面積あたりの葉緑素含量の経時変化を調査した。その結果、2016 年の標準肥料区において、両系統間で大きな差が認められた。DV85 は T65 と比較して出穂期において茎葉重が大きく、NSC 濃度が高く、出穂後にその量は速やかに減少し、穂重はより速く増加した。T65 の茎葉重は出穂から収穫期までほぼ一定に維持されていた。SPAD メーターによる止め葉の単位面積あたりの葉緑素含量は 5 DAH では両系統で同程度であったが、15 DAH にかけて T65 では維持された一方、DV85 では 15 DAH までに減少した。低肥料区で

は、両系統の差は顕著ではなかった。また、2017年度においては作期を遅くずらした試験を行ったが、標準肥料区・低肥料区のどちらにおいても両親の差は2016年ほどではなかった。低肥料区では一貫してNSC量が高くなっている、肥料が不十分な条件ではNSCは高く保たれるという先行研究を支持した。

2016年の標準肥料区において両親の差が最も顕著であったため、同条件で栽培した92系統からなるRILsの形質調査を行った。サンプリングは5、20、35DAHに行った。RILsにおける形質間相関を解析した結果、出穂後35日(35DAH)の穂重(PW35)を収量として代用した場合、PW35と5DAHにおけるバイオマス(BM5、以下同様)、BM20、BM35に正の相関が見られた。また、5DAHから35DAHにかけてのバイオマスの増加量(BM35-5)およびBM35-20もPW35と正の相関を示し、登熟期のバイオマス生産が収量に正の影響を与えることが示された。NSCにおいては、NSCの減少量(NSC35-5、NSC35-20)が収量(PW35)と正の相関を示し、出穂期にNSCを確保し、その多くの部分を転流できれば収量を改善できることが示された。35DAHにおけるNSC濃度(NSC35)は収量と負の相関を示し、より多くのNSCを穂に転流する系統が高収量を示した。SWTRは転流による茎葉重の減少割合として定義し、例えば5DAHから35DAHにかけての減少割合を $(SWTR_{5-35}) = (SW5 - SW35) / SW5$ として求めた。SWTR35-5はBM35-5、BM35-30およびBM20-5と負の相関を示し、出穂後の転流と新規バイオマス生産は拮抗する関係にあると考えられた。また、多くの形質は出穂期に影響を受けた。

RILsの遺伝子型を次世代DNAシーケンサーを用いたgenotyping by sequencingにより解析し、3276マーカーからなるDNAマーカー情報を得た。この遺伝子型情報と形質データを用いてQTL解析を行った。収量に関する有意なQTLは検出されなかった。出穂期に関するQTLが染色体5と10に検出され、その他の多くの形質も影響を受けた。染色体10の出穂期QTLは既報のEhd1であると考えられた。染色体5の出穂期QTLと同じ位置にBM5に関するQTL(*qBM5*)が検出され、新規のQTLであると考えられた。茎葉重の減少に関するSWTR20-35およびSWTR5-35では染色体11に新規QTL(*qSWTR11*)が検出された。このQTLは出穂後のBM生産(BM35-5)のQTLとも一致しており、登熟期間中の光合成能の維持と転流のバランスを制御する因子であると考えられた。また*qSWTR11*近傍に出穂期のQTLは検出されなかった。染色体1には出穂直後のNSC(NSC5)を制御する新規QTL(*qNSC1*)が検出され、収穫指數のQTLと一致した。出穂期のNSC量が高い場合は収量も高くなることが報告されており、このQTL是有用である。また、NSCの経時変化に関しては、染色体2にNSC5-35に関するQTL(*qNSC2*)を検出した。

これらのQTLのうち、*qBM5*および*qSWTR11*に関して、より均一な遺伝的背景を持つ材料による解析を進めた。*qSWTR11*に関しては、T65とDV85に由来する材料の代わりに、T65とDV85と近縁のaus品種である'Shoni'または'Kalo Dhan'の交雑に由来し、単粒系統法により得たF<sub>5</sub>、F<sub>6</sub>およびF<sub>7</sub>世代を利用した。この材料はresidual heterozygous line(RHL)と呼ばれ、F<sub>5</sub>においてほとんどの染色体領域が両親いずれかのホモに固定し、ターゲットである*qSWTR11*領域がヘテロとなっているような遺伝解析材料を指す。F<sub>5</sub>世代に由来するF<sub>6</sub>およびF<sub>7</sub>において自殖と選抜を行い、*qSWTR11*の遺伝子型が異なる複数の姉妹固定系統を得て形質の比較を行った。その結果、Kalo Dhan由来の材料ではQTL解析を支持する結果が得られなかつたが、これは用

いた  $F_5$ において多くの領域がヘテロで残存していたためであると考えられた。一方、Shoni 由来の材料では、 $F_7$  系統群において、*qSWTR11* の Shoni アレルをもつ系統が T65 アレルの系統よりも大きな SWTR を示し、QTL 解析の結果を支持し、*qSWTR11* をメンデル因子として認識できることが明らかとなった。*qBM5* に関しては、Shoni 由来の RHL および T65 を背景とし、DV85 由来のイントログレッショングループをもつ染色体部分置換系統に由来する遺伝的背景が均一な分離集団により、*aus* アレルがバイオマスを増加させる *qBM5* の効果を確認した。

以上のように、収量と相関をもつ NSC、SWTR および BM が別々の QTL (*qNSC1*、*qNSC2*、*qSWTR11*、*qBM5*) で制御されていたことから、これらを環境にあった形で最適に組み合わせることができれば、収量増加に貢献できることが明らかとなった。一方で、本研究で見出された QTL が収量増加に有用かどうかを判断するためにはさらなる解析が必要である。たとえば、速い転流は茎部の老化による倒伏の原因となる、出穂期の NSC 蓄積は悪環境下では収量安定に有用である、等が想定され、地域により環境・栽培要因を考慮し、最適な遺伝子型を利用すべきである。QTL の精密な解析には、安定した環境・解析の反復が必要であるが、本研究で育成した RHL は QTL のキャラクタライゼーションやマッピングによる遺伝子クローニングに有用である。